

泌尿生殖医学基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002156

PGRN对胚胎植入及胎盘血管形成的影响

冉佳佳, 张 华

(重庆医科大学附属第一医院妇产科、母胎医学重点实验室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨颗粒前体蛋白(progulin, PGRN)对小鼠胎盘血管形成的影响。**方法:**收集 2017 年 1 至 4 月在重庆医科大学附属第一医院行剖宫产手术的子痫前期(pre-eclampsia, PE)组(10 例)以及正常对照(normal control, NC)组(12 例)的胎盘组织;通过 PCR 及 Western blot 比较子痫前期组和正常对照组胎盘组织中 PGRN 蛋白的表达情况;通过免疫荧光以及免疫组化等方式来对比在孕 6.5 d 胚胎及孕 17.5 d 胎盘在 PGRN^{-/-}小鼠和正常小鼠血管生成情况;苏木素-伊红染色比较孕 6.5 d 子宫动脉管径大小及管壁厚度。**结果:**PGRN 在子痫前期组胎盘组织中的表达明显高于正常对照组,差异有统计学意义(1.420 ± 0.255 , 0.726 ± 0.192 , $t=4.118$, $P=0.001$);孕 6.5 d 时, PGRN^{-/-}小鼠的胚胎个数较正常对照明显减少(5.333 ± 1.154 , 9.333 ± 1.527 , $t=3.618$, $P=0.022$);在孕早期血管标志物 SMA 蛋白在 PGRN^{-/-}小鼠表达较对照组减弱($25\ 396.600 \pm 2\ 413.606$, $17\ 484.980 \pm 1\ 606.019$, $t=4.727$, $P=0.009$);PGRN^{-/-}小鼠子宫动脉较正常小鼠子宫动脉直径稍减小,血管肌层厚度减少较明显(675.844 ± 147.635 , $1\ 022.234 \pm 133.902$, $t=3.010$, $P=0.039$; 10.136 ± 1.634 , 18.214 ± 2.899 , $t=4.204$, $P=0.013$);孕 17.5 d, 血管标志物 SMA、COX2 及 Tie2 蛋白在 PGRN^{-/-}小鼠胎盘迷路层表达量比正常对照组减弱(626.467 ± 114.744 , $5\ 288.375 \pm 871.319$, $t=9.188$, $P=0.001$; 828.298 ± 29.192 , 1169.734 ± 43.490 , $t=11.290$, $P=0.000$; 335.766 ± 125.570 , $2\ 415.752 \pm 579.038$, $t=6.080$, $P=0.003$)。**结论:**PGRN 可能通过参与胚胎和胎盘的血管形成,在妊娠相关并发症的发生中起作用。

【关键词】子痫前期;颗粒前体蛋白;胚胎血管;胎盘血管

【中图分类号】R320.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-01-11

Effect of progranulin on embryo implantation and placental angiogenesis

Ran Jiajia, Zhang Hua

(Department of Gynaecology and Obstetrics, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;
Key Laboratory of Maternal and Fetal Medicine)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of progranulin(PGRN) on placental angiogenesis in mice. **Methods:** Placenta tissue samples were collected from 10 patients with preeclampsia(PE) who underwent caesarean section in The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from January to April, 2017(PE group) and 12 normal controls(NC group). PCR and Western blot were used to compare the expression of PGRN in the placenta between the PE group and the NC group. Immunofluorescence assay and immunohistochemistry were used to compare angiogenesis in the embryo on day 6.5 of pregnancy and in the placenta on day 17.5 of pregnancy between PGRN^{-/-} mice and normal mice. HE staining was used to compare the diameter and wall thickness of the uterine artery on day 6.5 of pregnancy between groups. **Results:** The PE group had significantly higher PGRN expression in placenta than the NC group(1.420 ± 0.255 vs. 0.726 ± 0.192 , $t=4.118$, $P=0.001$). On day 6.5 of pregnancy, the PGRN^{-/-} mice had a significantly lower number of embryos than the normal mice(5.333 ± 1.154 vs. 9.333 ± 1.527 , $t=3.618$, $P=0.022$). The PGRN^{-/-} mice had significantly lower expression of the vascular marker SMA protein than the normal mice in early pregnancy($25\ 396.600 \pm 2\ 413.606$ vs. $17\ 484.980 \pm 1\ 606.019$, $t=4.727$, $P=0.009$). Compared with the normal mice, the PGRN^{-/-} mice had significant reductions in the diameter of the uterine artery(675.844 ± 147.635 vs. $1\ 022.234 \pm 133.902$, $t=3.010$, $P=0.039$) and muscular thickness of the uterine artery(10.136 ± 1.634 vs. 18.214 ± 2.899 , $t=4.204$, $P=0.013$). On day 17.5 of pregnancy, the PGRN^{-/-} mice had significantly lower expression of the vascular markers SMA, COX2, and Tie2 than the normal mice(SMA: 626.467 ± 114.744 vs. $5\ 288.375 \pm 871.319$, $t=9.188$, $P=0.001$; COX2: 828.298 ± 29.192 vs. 1169.734 ± 43.490 , $t=11.290$, $P=0.000$; Tie2: 335.766 ± 125.570 vs. $2\ 415.752 \pm 579.038$, $t=6.080$, $P=$

0.003). **Conclusion:** PGRN may play a role in the development of pregnancy-related complications by participating in angiogenesis of the embryo and the placenta.

【Key words】 preeclampsia; progranulin; embryonic vessel; placental vessel

作者介绍: 冉佳佳, Email: 1532729391@qq.com,

研究方向: 子痫前期。

通信作者: 张 华, Email: 13527426805@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81571453)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190510.1551.078.html>

(2019-05-13)

正常妊娠需要众多生长因子及抑制因子的协同参与,以及相应激素的调节。而正常植入以及胎盘良好发育是成功妊娠的基础,任何环节异常均将导致不良妊娠结局,如子痫前期(pre-eclampsia,PE)、胎儿宫内生长受限等^[1-3]。小鼠的妊娠周期为 18.5 d,其中孕 4.5~6.5 d 是小鼠胚胎的植入期。在此过程中,伴随小鼠子宫动脉的改变,小鼠从囊胚侵入子宫逐步分化形成内外胚层,子宫螺旋动脉随之形成,胚胎初步开始发育。小鼠于孕 9.5 d 开始形成胎盘,孕 17.5 d 胎盘发育基本成熟^[4]。

颗粒前体蛋白(progrenin, PGRN)是一种多功能分泌型生长因子,广泛表达于多种组织及细胞,主要参与炎症及血管生成相关的病理生理过程^[5-7]。近年来大量研究表明,PGRN 是一个与血管生成相关的重要调节因子,参与新生血管生成^[7-9]。小鼠孕期有大量新生血管产生,尤其是早孕期胚胎植入时及胎盘形成的过程中,但 PGRN 在小鼠孕早期对胚胎血管生成方面及孕晚期胎盘血管生成方面是否有影响还未见明确报道。

本研究通过对 PGRN^{-/-}与正常小鼠的子宫动脉形态学、胚胎及胎盘血管发育方面的差异分析来探讨 PGRN 在小鼠胚胎植入过程中对胚胎及胎盘血管生成的影响,及其在早期胚胎发育过程中对小鼠子宫动脉影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 PGRN^{-/-}小鼠由重庆医科大学附属第一医院曹炬课题组友好捐赠^[10]。C57 购买自重庆医科大学动物中心,饲养于重庆医科大学无特定病原体 SPF3 动物房,每日恒定光照 12 h,常年恒定温度和湿度,自由饮食和饮水。将 8~12 周 PGRN^{-/-}雌鼠和 C57 雌鼠与 C57 雄鼠按照 1:1:1 的比例合笼,次日早上查到阴道栓记为孕 0.5 d;孕 6.5 d 时,0.3%水合氯醛腹腔注射麻醉后取子宫动脉和部分子宫胚胎组织放于 4%多聚甲醛中固定,余组织保存于负 80 °C 冰箱。本研究经重庆医科大学实验动物伦理委员会审查批准。

1.1.2 胎盘组织 实验组选取 2017 年 1 至 4 月在重庆医科大学附属第一医院产科收治的子痫前期患者胎盘 10 例,诊断标准参照文献^[3];正常组选取相近孕期孕妇胎盘 12 例;所有研究对象均为单胎,以剖宫产终止妊娠,麻醉方式相同;既往无其他合并症,且孕期无感染性疾病。子痫前期组与正常对照组孕妇相比,年龄、孕次和产次没有明显差异;尿蛋白、收缩压、舒张压明显高于正常对照组,差异均具有统计学意义。本研究获得重庆医科大学伦理委员会批准,受试者均知情并同意。

1.1.3 主要试剂 免疫组化试剂盒和 DAB 显色液购自北京中杉生物技术有限公司;兔多克隆抗体 PGRN,鼠单克隆抗体 SMA 和 Tie2 购买自英国 Abcam 生物公司;兔单克隆抗体 COX2 购买自美国 CST 生物公司;引物、DNAMarker 以及 PCR 扩增试剂盒购买自日本 Takara 公司;鼠源 actin 一抗购买自中国武汉博士德有限公司;兔源和鼠源的二抗购买自北京鼎国有限公司;荧光二抗购买自中国武汉三鹰生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 qRT-PCR 相应的 PCR 引物见表 1。采用裂解液 RL 抽提胎盘总 RNA,异丙醇沉淀浓缩,灭菌 DEPC 水溶解总 RNA,紫外分光光度计测总 RNA 的光密度值。逆转录为 cDNA 后,运用 qRT-PCR 检测 PGRN 的表达,相对表达量用 2^{-ΔΔCt} 法分析。

表 1 qRT-PCR 的引物

基因	序列:5' - 3'
PGRN	正向序列 AATGGCCACAACTGAGC
	反向序列 CTGGAAGTCCCTGAGACGGTAA

1.2.2 Western blot 将提取的组织蛋白浓度调至 2 μg/μL,分别取 20 μL 加入 SDS-聚丙烯酰胺进行电泳,后转至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶室温封闭 1.5 h,一抗(PGRN、β-actin)4 °C 过夜。二抗室温孵育 1 h。ECL 试剂盒(Millipore 公司,德国)行化学发光显影。

1.2.3 DNA 琼脂糖电泳 剪小鼠尾巴提取 DNA,并进行相应的扩增反应,扩增引物及程序按照 Jackson laboratory protocol,扩增结束后样品放于冰上,琼脂糖与 TBE 以及核酸染料配制凝胶,放入装满 TBE 电泳液的电泳槽中,拔出梳子上样。于 90 V 电压跑 30 min 后,取出凝胶于 Bio-Rad 显影。

1.2.4 石蜡切片及苏木素-伊红染色 胎盘组织于 4%多聚甲醛中固定,经乙醇梯度脱水后制成石蜡块。切成 5 μm 片子烤干待用。组织切片采用二甲苯脱蜡,梯度酒精水化;柠檬酸盐缓冲液抗原热修复后 PBS 浸洗;苏木精水溶液染色;盐酸酒精分色,饱和碳酸锂返蓝;乙醇脱水;二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜下观察拍照。

1.2.5 免疫组化和免疫荧光 组织切片二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,流水冲洗,蒸馏水浸泡;柠檬酸盐缓冲液抗原热修复冷却后 PBS 浸洗;封闭液 A 孵育;鼠单克隆 SMA 抗体(1:200,Abcam)和 Tie2(1:200,Abcam)、兔单克隆 COX2(1:600,CST)4 °C 过夜。次日复温后,组化试剂盒 B 液孵育后 PBS 浸洗;组化试剂盒 C 液孵育后 PBS 浸洗;DAB 显色;苏木精复染,盐酸酒精分色,饱和碳酸锂返蓝,自来水冲洗;乙醇脱水;二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜下观察拍照。免疫荧光以下步骤均避光操作,荧光二抗(1:100,鼎国,中国北京)室温孵育后 PBS 浸洗;DAPI 核染后浸洗;抗荧光淬灭封片剂封片,于荧光显微镜下观察拍照。

1.3 统计分析

所有资料采用 Graph Pad Prism 5.0 软件进行统计学分析。每个实验包括至少 3 个独立样品。以 2Ct 值作为 qRT-

PCR结果进行统计,2组均数间的比较采用独立样本 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 PGRN 在子痫前期的表达明显低于正常对照组

本实验采用 10 例子痫前期组织及 12 例正常胎盘组织进行 PCR 及 Western blot 分析(代表性 PCR 及 Western blot 结果分别如图 1 和图 2 所示,结果证实与正常对照组(normal control,NC)相比,子痫前期组胎盘中 PGRN 蛋白水平升高,差异具有统计学意义($1.420 \pm 0.255, 0.726 \pm 0.192, t=4.118, P=0.001$)。

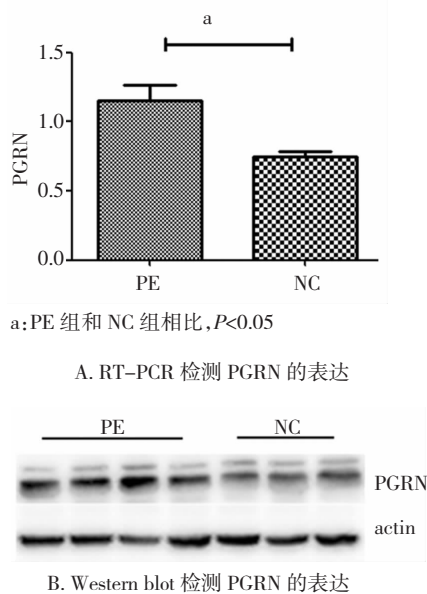


图 1 PCR 和 Western blot 检测 PGRN 在子痫及正常对照孕妇的表达水平

2.2 PGRN^{-/-}小鼠基因鉴定结果

每只基因敲除小鼠均行基因鉴定,如图 2 所示,空白组为空白对照,野生型(WT)小鼠基因 468 bp 位于条带 500 bp 附近,PGRN^{-/-}小鼠基因 211 bp 位于条带 200 bp 附近,基因鉴定结果显示 PGRN^{-/-}小鼠均为 PGRN 基因敲除小鼠。

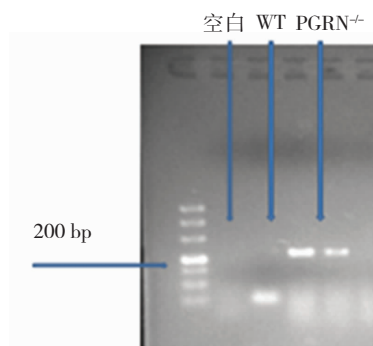


图 2 琼脂糖电泳检测 PGRN 基因在 PGRN^{-/-}和野生型小鼠表达情况

2.3 PGRN 可能影响胚胎数量

孕 6.5 d,植入点在敲除组小鼠和正常对照组小鼠中都清晰可见,其中,敲除组的植入点数量明显低于正常对照组($5.333 \pm 1.154, 9.333 \pm 1.527, t=3.618, P=0.022$)。见图 3。

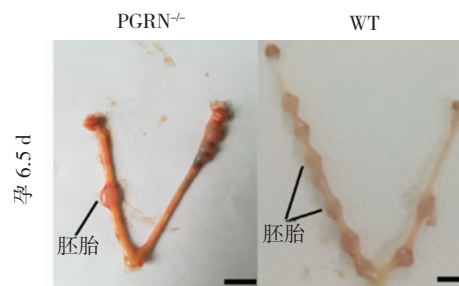


图 3 敲除组小鼠和正常对照组小鼠中植入点数量

2.4 在孕早期 PGRN^{-/-}小鼠比 WT 小鼠血管生成明显下降,胚胎发育相对落后

在孕早期的植入点切片行血管标记物 SMA 荧光染色(图 4)可以发现,敲除组小鼠血管密度比正常组小鼠明显减少。同时,敲除组小鼠的胚胎发育较正常组小鼠也明显落后($25\ 396.600 \pm 2\ 413.606, 17\ 484.980 \pm 1\ 606.019, t=4.727, P=0.009$)。

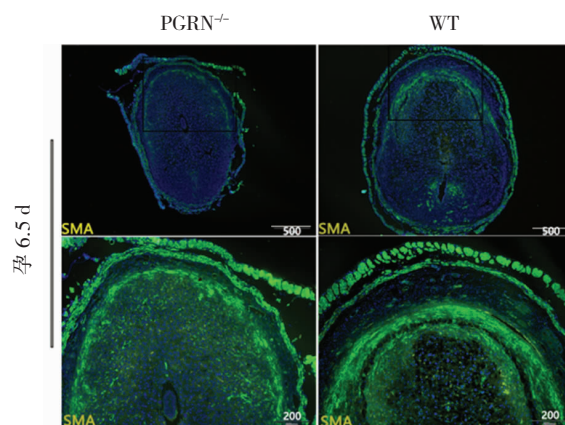


图 4 孕 6.5 d 时免疫荧光检测 SMA 在敲除组小鼠和正常对照组小鼠中的表达情况

2.5 PGRN 可能对早孕期小鼠子宫动脉的形态有影响

在孕 6.5 d 的小鼠子宫动脉苏木素-伊红染色图片(图 5)可以发现,敲除组小鼠子宫动脉管腔大小以及管壁肌层厚度均小于正常对照组小鼠($675.844 \pm 147.635, 1\ 022.234 \pm 133.902, t=3.010, P=0.039; 10.136 \pm 1.634, 18.214 \pm 2.899, t=4.204, P=0.013$)。

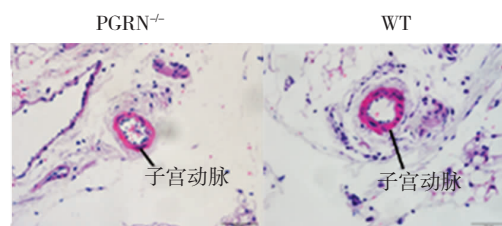
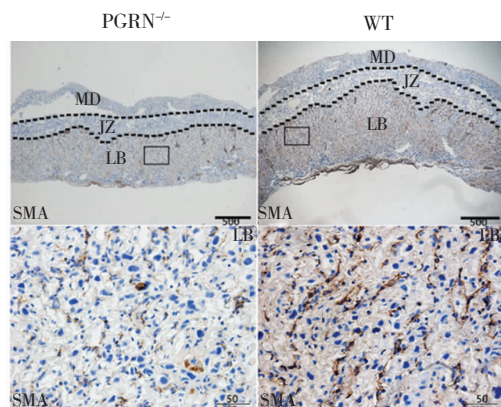


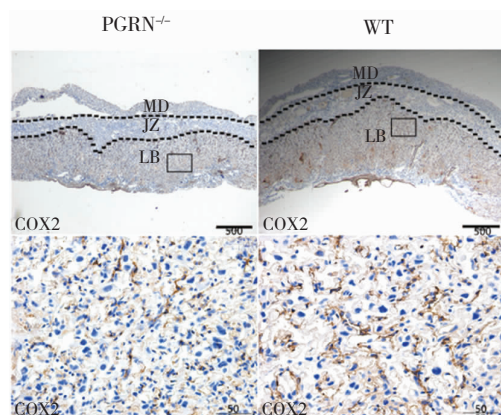
图 5 HE 染色检测孕 6.5 d 子宫动脉在敲除组小鼠和正常对照组小鼠中的形态 (200×)

2.6 在孕晚期 PGRN^{-/-}小鼠血管生成比 WT 小鼠明显下降

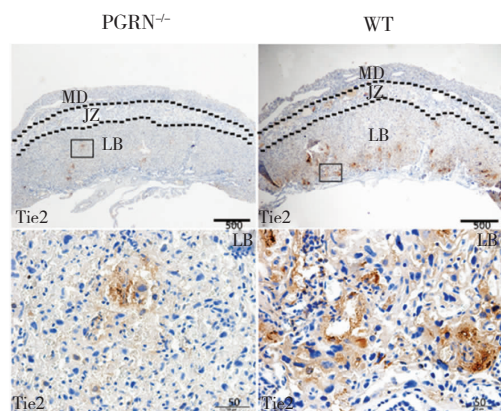
在孕晚期,血管标记蛋白 SMA、COX2 及 Tie2 在胎盘免疫组化染色(图 6)发现,敲除组小鼠胎盘血管密度较正常组小鼠明显减少(SMA: 626.467 ± 114.744 , 5288.375 ± 871.319 , $t=9.188$, $P=0.001$; COX2: 828.298 ± 29.192 , 1169.734 ± 43.490 , $t=11.290$, $P=0.000$; Tie2: 335.766 ± 125.570 , 2415.752 ± 579.038 , $t=6.080$, $P=0.003$)。



A. 免疫组化检测 SMA 在胎盘组织的表达



B. 免疫组化检测 COX2 在胎盘组织的表达



C. 免疫组化检测 Tie2 在胎盘组织的表达

MD: 母体蜕膜层; JZ: 连接层; LB: 迷路层

图 6 孕 17.5 d, 免疫组化检测 SMA、COX2 及 Tie2 在 PGRN^{-/-}和 WT 小鼠胎盘的表达情况

3 讨论

PGRN 在大部分组织器官中都有表达^[11], 可调节生长发育^[12]和损伤修复^[13]等过程, 且在多种肿瘤组织中高表达, 能诱导人肿瘤细胞和内皮细胞增殖, 促进内皮管腔样结构的形成, 提示其在肿瘤血管生成、细胞增殖及转移等方面都发挥重要作用^[14-18]。同时, 目前有研究表明 PGRN 蛋白在子痫前期及胎儿生长受限孕妇表达量与正常孕妇相比有统计学差异^[19-20], 且普遍认为其发病机制是由胎盘血管异常而引起胎盘缺血缺氧, 并出现一系列临床症状^[21]。同时本研究也证实了 PGRN 在子痫前期与正常孕妇胎盘组织中的差异表达。

良好的植入是胎盘发育的基础, 胎盘进一步决定着哺乳动物最初的发育方向^[22]。研究表明, PGRN 能影响囊胚的粘附及发育^[23], 那么 PGRN 是否会影响植入完成后的胚胎发育呢? 本研究检测孕 6.5 d 植入结束后的胚胎情况, 发现 PGRN 敲除组的植入点数量比正常对照组明显减少。取植入点切片行免疫荧光检测, 提示血管标志蛋白 SMA 在 PGRN 敲除组胚胎的表达量与正常对照组相比明显减弱, 提示 PGRN 可能参与了小鼠胚胎血管形成。

胎盘作为母体和胎儿进行气体和营养物质交换的场所, 是胎儿生长发育极为重要的器官^[24-25]。胎盘发育伴随着丰富的血管形成, 良好的胎盘血管网和血流灌注可提供给胎儿稳定健康的生长环境, 而各种原因导致的胎盘血管形成障碍或异常则可能造成流产、胎儿发育受限、子痫前期等妊娠期特有疾病发生^[26]。因此, 血管发生在胎盘生长发育中的作用十分关键。本研究也提示 PGRN 可能参与了小鼠胎盘血管形成。

综上所述, PGRN 可能通过参与胚胎和胎盘的血管形成, 在妊娠相关并发症的发生中起重要作用。本研究仅仅观察了小鼠胚胎植入及胎盘发育过程中的一些表象, 还需从机制进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Cha J, Sun X, Dey SK. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy[J]. Nature Medicine, 2012, 18(12): 1754-1767.

- [2] Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, et al. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies[J]. *British Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 1994, 101(8): 669–674.
- [3] Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia[J]. *Lancet*, 2016, 365(9461): 785–799.
- [4] Rossant J, Cross JC. Placental development: lessons from mouse mutants[J]. *Nat Rev Genet*, 2001, 2(7): 538–548.
- [5] Kai K, Leopold F, Michael S, et al. Proteinase 3 and neutrophil elastase enhance inflammation in mice by inactivating antiinflammatory progranulin[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2008, 118(7): 2438–2347.
- [6] Desmarais JA, Cao M, Bateman A, et al. Spatiotemporal expression pattern of progranulin in embryo implantation and placenta formation suggests a role in cell proliferation, remodeling, and angiogenesis[J]. *Reproduction*, 2008, 136(2): 247–257.
- [7] Toh H, Cao M, Daniels E, et al. Expression of the growth factor progranulin in endothelial cells influences growth and development of blood vessels: a novel mouse model[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64989.
- [8] 陈永对. 颗粒蛋白前体与血管生成素相互作用及其功能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [9] 杨东. PGRN 在结直肠癌中的作用及分子机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [10] Song Z, Zhang X, Zhang L, et al. Progranulin plays a central role in host defense during sepsis by promoting macrophage recruitment[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194(10): 1219–1232.
- [11] Jian J, Konopka J, Liu C. Insights into the role of progranulin in immunity, infection, and inflammation[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2013, 93(2): 199–208.
- [12] He Z, Ismail A, Kriazhev L, et al. Progranulin (PC-cell-derived growth factor/acrogranin) regulates invasion and cell survival[J]. *Cancer Research*, 2002, 62(19): 5590–5596.
- [13] He Z, Ong CH, Halper J, et al. Progranulin is a mediator of the wound response[J]. *Nature Medicine*, 2003, 9(2): 225–229.
- [14] Nedachi T, Kawai T, Matsuaki T, et al. Progranulin enhances neural progenitor cell proliferation through glycogen synthase kinase 3 β phosphorylation[J]. *Neuroscience*, 2011, 185: 106–115.
- [15] Daniel R, Daniels E, He Z, et al. Progranulin (acrogranin/PC cell-derived growth factor/granulin-epithelin precursor) is expressed in the placenta, epidermis, microvasculature, and brain during murine development[J]. *Developmental Dynamics*, 2003, 227(4): 593–599.
- [16] Yang D, Wang LL, Dong TT, et al. Progranulin promotes colorectal cancer proliferation and angiogenesis through TNFR2/Akt and ERK signaling pathways[J]. *American Journal of Cancer Research*, 2015, 5(10): 3085–3097.
- [17] He Z, Bateman A. Progranulin (granulin-epithelin precursor, PC-cell-derived growth factor, acrogranin) mediates tissue repair and tumorigenesis[J]. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*, 2003, 81(10): 600–612.
- [18] Eguchi R, Nakano T, Wakabayashi I. Progranulin and granulin-like protein as novel VEGF-independent angiogenic factors derived from human mesothelioma cells[J]. *Oncogene*, 2017, 36(5): 714–722.
- [19] Stuber J, Schattenberg F, Richter DU, et al. Trophoblastic progranulin expression is upregulated in cases of fetal growth restriction and preeclampsia[J]. *Journal of Perinatal Medicine*, 2012, 40(5): 475–481.
- [20] Serdar Açıkgöz A, Tüten A, Öncül M, et al. Evaluation of maternal serum progranulin levels in normotensive pregnancies, and pregnancies with early- and late-onset preeclampsia[J]. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2016, 29(16): 2658–2664.
- [21] Gilbert JS, Ryan MJ, Lamarca BB, et al. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction[J]. *Hypertension*, 2001, 38(3 Pt 2): 718–722.
- [22] Cross JC, Werb Z, Fisher SJ. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle[J]. *Science*, 1994, 266(5190): 1508–1518.
- [23] Qin J, Díaz-Cueto L, Schwarze JE, et al. Effects of progranulin on blastocyst hatching and subsequent adhesion and outgrowth in the mouse[J]. *Biology of Reproduction*, 2005, 73(3): 434–442.
- [24] Cross JC, Hemberger M, Lu Y, et al. Trophoblast functions, angiogenesis and remodeling of the maternal vasculature in the placenta[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2002, 187(1–2): 207–212.
- [25] John R, Hemberger M. A placenta for life[J]. *Reproductive Bio-medicine Online*, 2012, 25(1): 5–11.
- [26] Jackson MR, Walsh AJ, Morrow RJ, et al. Reduced placental villous tree elaboration in small-for-gestational-age pregnancies: relationship with umbilical artery Doppler waveforms[J]. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1995, 172(1): 518–525.

(责任编辑: 冉明会)